

## СИСТЕМА ОБРАЗОВАНИЯ ОКСИДА АЗОТА У КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНЫЙ СТРЕСС

ПАВЛЮКЕВИЧ А.Н., БЕЛЯЕВА Л.Е.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,  
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №2. – С. 35-43.

## THE SYSTEM OF NITRIC OXIDE PRODUCTION IN RATS WHICH HAVE UNDERGONE PRENATAL STRESS

PAULIUKEVICH A.N., BELYAEVA L.E.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(2):35-43.

---

### Резюме.

Цель – оценить уровень образования оксида азота (NO), интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови и уровень системного воспаления низкой интенсивности, а также определить артериальное давление (АД) у крыс, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности. Материал и методы. Из беспородных беременных крыс (180-220 г) сформировали две группы по 10 животных в каждой. Крыс группы «Стресс» в различные дни беременности подвергали голоданию в течение суток, контакту с экскрементами кошек в течение суток и 20-минутной иммобилизации в воде ( $t^{\circ}=23\pm 2$ ); у второй группы («Контроль») беременность развивалась в нормальных условиях. У 3-месячного потомства в сыворотке крови определяли концентрацию нитратов/нитритов ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ), эндотелиальной и индуцибельной изоформ NO-синтазы (eNOS и iNOS соответственно), асимметричного диметиларгинина (ADMA), диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), С-реактивного белка ( $^{\text{hs}}\text{CRP}$ ), а также измеряли АД.

Результаты. Действие стрессоров в пренатальном периоде способствовало повышению АД, увеличению концентрации iNOS, CRP и МДА без статистически значимых изменений уровня  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в сыворотке крови 3-месячных крыс обоих полов. У самцов (но не самок), чьи матери подвергались действию стрессоров во время беременности, также выявлено снижение концентрации eNOS и повышение содержания ADMA и ДК в сыворотке крови. Заключение. Нарушения системы синтеза NO у пренатально стрессированных крыс имеют половые особенности. У 3-месячного потомства, родившегося от крыс, которые подвергались действию стрессоров во время беременности, повышается интенсивность ПОЛ, развивается системное воспаление низкой интенсивности и повышается АД.

*Ключевые слова:* пренатальный стресс, оксид азота, NO-синтаза, асимметричный диметиларгинин, перекисное окисление липидов, системное воспаление низкой интенсивности, артериальное давление.

### Abstract.

Objectives. To assess the level of nitric oxide (NO) production, intensity of the lipid peroxidation (LPO) processes in the blood serum and the low grade inflammation level as well as to measure the blood pressure (BP) in rats whose mothers were exposed to the impact of stressors during pregnancy.

Material and methods. Outbred pregnant rats (180-220 g) were divided into 2 groups, 10 animals in each. Pregnant rats out of «stress» group underwent the influence of different types of stress factors: fasting during the day, contact with cats' excrements during the day and 20 minute immobilization in water ( $t=23\pm 2$ ); while pregnancy in the second group of rats developed in normal conditions («control»). Serum concentration of nitrates / nitrites ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ), endothelial and inducible isoforms of NO-synthase (eNOS and iNOS, respectively), asymmetric dimethylarginine (ADMA), diene conjugates (DC), malondialdehyde (MDA), C-reactive protein ( $^{\text{hs}}\text{CRP}$ ) and BP were determined in 3-month-old offspring. Results. Stressors exposure in the prenatal period led to the increase in blood pressure, iNOS,  $^{\text{hs}}\text{CRP}$  and MDA concentration without any statistically significant changes of the level of  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  in the blood serum of both male and

female rats. In male rats (but not females), whose mothers were exposed to stress during pregnancy, the decrease in the level of eNOS and the increase in the content of ADMA and DC in the blood serum were revealed.

Conclusions. Disorders of the NO synthesis system in prenatally stressed rats have sexual features. In 3-month offspring of rats, which were exposed to the impact of stressors during pregnancy, lipid peroxidation intensity and blood pressure were increased and systemic low-grade inflammation developed.

Key words: *prenatal stress, nitric oxide, NO-synthase, asymmetric dimethylarginine, lipid peroxidation, systemic low grade inflammation, arterial blood pressure.*

Представления о функции эндотелия, его роли в поддержании структурного гомеостаза сосудистой стенки претерпели значительные изменения в 80-х годах XX века, когда эндотелиоциты стали рассматриваться не только как барьерные клетки, но и как эндокринный «орган», необходимый для правильного функционирования сердечно-сосудистой системы. Важным открытием в это же время стало обнаружение фактора релаксации эндотелия, которым впоследствии оказался оксид азота (NO) [1]. Дефицит NO как проявление эндотелиальной дисфункции является важным звеном патогенеза различных форм патологии сердца и сосудов: атеросклероза, артериальной гипертензии, сахарного диабета, патологии почек и др. [2]. Важно, что, согласно теории Barker D. (1998) [3], патология сердечно-сосудистой системы может быть «запрограммирована» во внутриутробном периоде при условии воздействия неблагоприятных факторов на организм во время беременности. Функционирование системы продукции NO у организмов, чьи матери подвергались действию стрессоров во время беременности, изучено недостаточно.

Цель работы – оценить уровень образования оксида азота (NO), интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови и уровень системного воспаления низкой интенсивности, а также определить артериальное давление (АД) у крыс, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности.

## Материал и методы

Эксперименты на животных проводились в соответствии с требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990). Для получения потомства были отобраны беспородные самки и самцы *Rattus Muridae*, находящиеся в стандартных условиях вивария и полу-

чающие стандартный рацион питания. Самцов и самок высаживали в клетки в соотношении 1:1. После наступления беременности, о чем свидетельствовало обнаружение сперматозоидов во влагалищном мазке самки, самцы были отсажены, из самок методом случайного выбора сформировали две группы: «Контроль» и «Стресс». Для моделирования стрессовой ситуации использовали модель хронического непредсказуемого стресса. Крыс группы «Стресс» со 2-го по 16-й день беременности подвергали различным видам стрессорных воздействий. Во 2-й, 9-й и 16-й дни крыс лишали пищи в течение суток, обеспечивая свободный доступ к воде. В 4-й и 11-й дни воспроизводили иммобилизационный стресс, фиксируя животных в вертикальном положении в пластиковом пенале, заполненном водой ( $t=23\pm 2^\circ\text{C}$ ), до уровня шеи, в течение 20 минут. В 6-й и 13-й дни имитировали присутствие хищника (контакт с экскрементами кошек в течение одних суток) [4]. У предварительно адаптированного в течение 2 недель 3-месячного потомства неинвазивным методом с использованием датчика-манжетки (NIBP, Panlab), располагавшегося в проекции хвостовой артерии, измеряли частоту сердечных сокращений (ЧСС), систолическое (САД) и диастолическое (ДАД), а также среднее артериальное давление (СрАД).

В сыворотке крови половозрелого потомства определяли концентрацию стабильных продуктов деградации оксида азота – нитратов/нитритов ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ) методом, основанным на восстановлении нитратов до нитритов цинковой пылью в щелочной среде в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди, с последующим фотометрическим определением нитрит-ионов с помощью реакции Грисса при длине волны 520 нм [5]. Концентрацию диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови также определяли спектрофотометрически [6, 7].

Методом иммуноферментного анализа в

сыворотке крови 3-месячного потомства определяли:

(1) концентрацию эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) с использованием набора Cloud-Clone Corp. (SEA868Ra ELISA Kit for Nitric Oxide Synthase 3, Endothelial, NOS3). Минимальная определяемая концентрация eNOS составляла 0,65 нг/мл. Оптическую плотность в исследуемой среде определяли при длине волны  $450 \pm 10$  нм;

(2) концентрацию индуцибельной NO-синтазы (iNOS) с использованием набора Cloud-Clone Corp. (SEA837Ra ELISA Kit for Nitric Oxide Synthase 2, Inducible, NOS2). Минимальная определяемая концентрация iNOS составляла 0,62 нг/мл. Оптическую плотность в исследуемой среде определяли при длине волны  $450 \pm 10$  нм;

(3) содержание асимметричного диметиларгинина (ADMA) с использованием набора Bioassay Technology Laboratory (EA0008Ra ELISA Kit for Rat Asymmetrical Dimethylarginine). Минимальная определяемая концентрация ADMA составляла 0,99 нг/мл. Оптическую плотность в исследуемой среде определяли при длине волны  $450 \pm 10$  нм;

(4) содержание С-реактивного белка (<sup>hs</sup>СРБ) высокочувствительным методом с использованием набора Elabscience (high-sensitivity C-Reactive Protein, Catalog № E-EL-R0506) с чувствительностью 0,1 нг/мл. Оптическую плотность в исследуемой среде определяли при длине волны  $450 \pm 10$  нм. Стандартная кривая оптической плотности имела коэффициент линейной зависимости, превышающий 0,9900.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Statistica 10.0». Характеристики частотных распределений представляли в виде Me (15%; 85%). Цифровые данные сравнивали с использованием U-критерия Манна-Уитни для независимых групп. Различия цифровых показателей считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Содержание eNOS в сыворотке крови потомства-самцов группы «Стресс» оказалось сниженным на 22,5%, по сравнению с содержанием этой изоформы NO-синтазы у потомства-самцов группы «Контроль» (рис. 1). У самок, перенесших пренатальный стресс, статистически значимых различий уровня eNOS при сравнении с таковым у потомства-самок группы «Контроль»

выявлено не было.

Концентрация iNOS в сыворотке крови самок и самцов, перенесших пренатальный стресс, была повышенной в равной степени – в 2,6 раза, по сравнению с таковой в сыворотке крови потомства контрольных крыс (рис. 1). Содержание  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в сыворотке крови крыс, матери которых подвергались хроническому стрессу во время беременности, статистически значимо не отличалось от такового, обнаруженного в крови самцов и самок-потомства контрольных крыс.

Концентрация АДМА в сыворотке крови пренатально стрессированных самок статистически значимо не отличалась от таковой в сыворотке крови самок-потомства крыс группы «Контроль». У самцов-потомства крыс, подвергавшихся действию стрессоров во время беременности, содержание АДМА в сыворотке крови оказалось повышенным на 63,1%, по сравнению с данным показателем в сыворотке крови потомства-самцов группы «Контроль» (рис. 1).

Пренатальный стресс способствовал увеличению содержания ДК в сыворотке крови потомства-самцов (но не самок) на 21,1%, в то время как повышенное содержание МДА было выявлено у потомства обоих полов – в 1,5 раза у самцов и в 2,3 раза у самок-потомства группы «Стресс», по сравнению с таковыми в сыворотке крови контрольного потомства.

Содержание <sup>hs</sup>СРБ было статистически значимо выше у потомства крыс группы «Стресс»: у самок на 23,9%, а у самцов – на 20,3%, по сравнению с таковым у потомства крыс группы «Контроль» соответствующего пола.

Величины САД, ДАД и СрАД у 3-месячных самок и самцов, перенесших пренатальный стресс, были статистически значимо выше, чем у потомства контрольных крыс (рис. 2). Так, у самок, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности, СрАД на 16,7% было выше, по сравнению с таковым у самок-потомства крыс группы «Контроль». У пренатально стрессированных самцов СрАД превышало таковое, зарегистрированное у потомства-самцов контрольных крыс, на 17,4%. Следует отметить, что статистически значимых различий в величинах ЧСС у потомства крыс групп «Стресс» и «Контроль» выявлено не было.

## Обсуждение

Важность адекватной продукции и био-

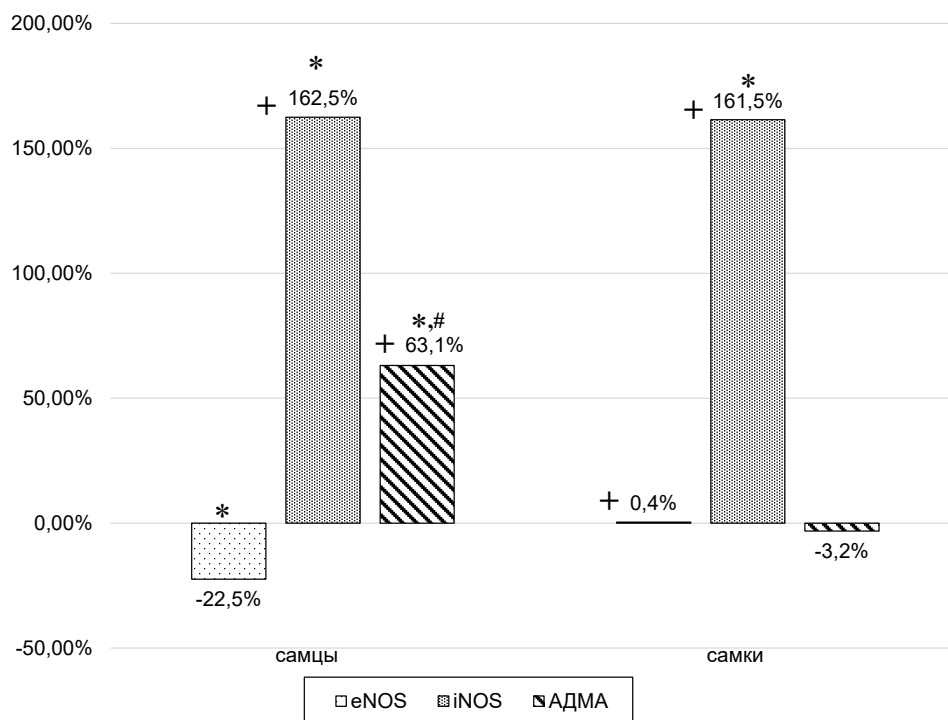


Рисунок 1 – Изменение концентрации eNOS, iNOS, АДМА в сыворотке крови пренатально стрессированных животных, по сравнению с соответствующими показателями у потомства контрольных крыс, %:

\* $p < 0,05$  – сравнение с изучаемыми показателями потомства крыс группы «Контроль» соответствующего пола;

# $p < 0,05$  – сравнение с изучаемыми показателями самок-потомства крыс группы «Стресс».

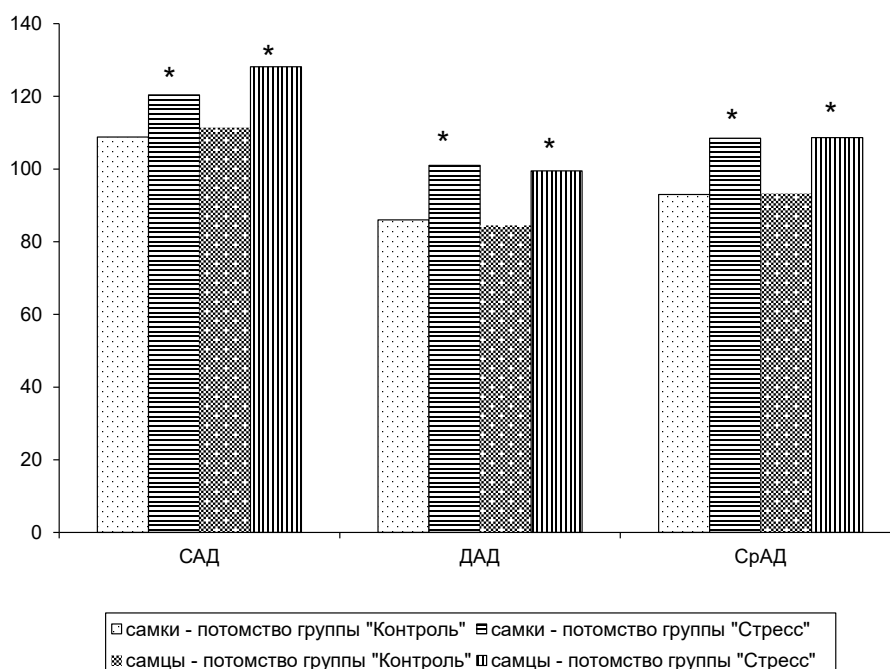


Рисунок – 2 Уровень АД у пренатально стрессированных 3-месячных крыс, мм рт. ст.:

\* $p < 0,05$  – сравнение с изучаемыми показателями потомства крыс группы «Контроль» соответствующего пола;

САД – систолическое АД; ДАД – диастолическое АД; СрАД – среднее АД.

доступности NO обуславливается широким спектром его биологического действия. В крове-

носных сосудах NO выполняет ряд функций: вызывает вазодилатацию; препятствует развитию

тромбоза; подавляет воспаление; стимулирует ангиогенез; подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток; ингибирует окисление ЛПНП [8]. Рассмотрим кратко процессы образования и действия NO. Образование NO из аминокислоты L-аргинина происходит при участии трех изоформ фермента NO-синтазы: iNOS, eNOS и нейрональной nNOS. Интенсивность продукции NO зависит от экспрессии генов NO-синтазы и активности этого фермента. Повышение экспрессии гена eNOS, располагающегося в 7-й хромосоме, в физиологических условиях происходит при увеличении действия напряжения сдвига на эндотелиоциты, а также при воздействии низких доз  $H_2O_2$ , эстрогенов и факторов роста. Провоспалительные цитокины (ФНО- $\alpha$ ) и гипоксия способствуют снижению экспрессии этой изоформы NO-синтазы [9]. Эпигенетические механизмы (изменение степени метилирования ДНК, модификации гистонов и действие малых «некодирующих РНК») также регулируют экспрессию eNOS [10-12]. Повышение экспрессии генов iNOS, локализованных в 17 хромосоме, может происходить при действии липополисахарида, провоспалительных цитокинов, HIF-1 (фактора ядерной транскрипции, индуцируемого гипоксией), высокой концентрации активных форм кислорода (АФК), а также при гипометилировании промотора iNOS [13, 14].

Активность eNOS зависит от многих факторов: доступности субстрата NO-синтазной реакции (аминокислоты L-аргинина) и кофакторов (тетрагидриобиптерина, гема, флавиномононуклеотида, флавинадениндинуклеотида), конформационного расположения субъединиц фермента, а также от концентрации ингибиторов NO-синтазной реакции (АДМА, симметричного диметиларгинина). Являясь естественным ингибитором активности NO-синтазы, АДМА может значительно снижать образование NO. Синтез АДМА из L-аргинина происходит с участием фермента протеин-аргинин-метилтрансферазы, а при действии диметиларгинин диметиламиногидролазы (ДДАГ) этот ингибитор NO-синтазной реакции, напротив, разрушается [15].

В процессе метаболизма NO образуются его продукты,  $NO_3^-/NO_2^-$ , содержание которых в крови лабораторных животных, получающих стандартную лабораторную диету, косвенно характеризует, во-первых, «валовое» образование NO в ходе NO-синтазной реакции из аминокислоты L-аргинина во всем организме всеми изофор-

мами NO-синтаз; во-вторых, доступность этой аминокислоты для NO-синтазной реакции из-за возможного разрушения L-аргинина аргиназой; в-третьих, активность ферментных систем, образующих и инактивирующих ингибиторы NO-синтазной реакции [16].

В нашем исследовании пренатальный стресс способствовал снижению концентрации eNOS у пренатально стрессированных самцов, но не самок, что предрасполагает к дефициту NO в организмах таких самцов. Причем дефицит NO может быть связан как с уменьшением количества eNOS, так и с подавлением активности этой изоформы NO-синтазы асимметричным диметиларгинином, концентрация которого у пренатально стрессированных самцов в несколько раз была повышена. Важно отметить, что АДМА, конкурируя с L-аргинином за активные центры NO-синтазы, способен «разобщать» этот фермент, что сопровождается образованием супероксид-аниона и пероксинитрита [17] с развитием окислительного и нитрозилирующего стресса. Кстати, наблюдается связь между повышенной концентрацией АДМА и развитием различных форм патологии, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией: артериальной гипертензией, сахарным диабетом, ожирением, ишемической болезнью сердца, гиперхолестеремией, а также болезнями почек [18, 19].

Повышение концентрации iNOS в сыворотке крови пренатально стрессированных крыс может быть объяснено следующим. Увеличенное содержание СРБ в крови пренатально стрессированных крыс косвенно отражает повышение образования провоспалительных цитокинов в организме таких животных [20]. Одной из причин повышенного содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у животных, перенесших пренатальный стресс, может быть нарушение микробиома их кишечника [21] и повышение проницаемости кишечника с интенсификацией процесса бактериальной энтеральной транслокации. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов способен усилить экспрессию генов iNOS, а также активировать процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) с образованием высоких концентраций ДК и МДА, что и было нами обнаружено. В свою очередь, ПОЛ инициирует повреждение клеток с последующим развитием воспаления, повышением содержания провоспалительных цитокинов в крови и активацией iNOS [22].

Отсутствие статистически значимого изменения содержания  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  у пренатально стрессированных самцов на фоне повышения концентрации iNOS в сыворотке крови может быть обусловлено сопутствующим снижением у них активности эндотелиоцитарной NO-синтазы, причем активность eNOS могла быть ингибирована АДМА. В целом, обнаруженные изменения указывают на имеющиеся у пренатально стрессированных самцов системное воспаление низкой интенсивности и эндотелиальную дисфункцию.

Пренатальный стресс вызывал меньшие изменения в системе синтеза NO у потомства-самок. Важно отметить отсутствие снижения концентрации eNOS у потомства-самок группы «Стресс», по сравнению с концентрацией этого фермента у самцов-потомства крыс этой же группы, что может быть обусловлено способностью эстрогенов стимулировать экспрессию этой изоформы NO-синтазы [23]. Эстрогены также способны активировать ДДАГ [24], предотвращая, таким образом, избыточное образование АДМА. В отличие от пренатально стрессированных самцов, у пренатально стрессированных самок содержание АДМА в сыворотке крови не отличалось от такового у потомства контрольных крыс соответствующего пола. Повышенное содержание СРБ, iNOS, МДА в сыворотке крови самок, перенесших стресс в пренатальном периоде, также свидетельствует о поддержании воспаления низкой интенсивности и интенсификации процессов ПОЛ. Для уточнения причин отсутствия статистически значимого изменения содержания  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  у пренатально стрессированных самок на фоне повышения концентрации iNOS и без сопутствующего снижения концентрации eNOS требуется изучение активности eNOS.

У пренатально стрессированных крыс наблюдалось повышение АД, причем с учетом того факта, что ЧСС статистически значимо не отличалась от таковой у потомства крыс группы «Контроль», вероятнее всего, рост АД происходил за счет повышения общего периферического сопротивления сосудов (ОПСС) и/или ударного объема. Необходимо отметить: ранее в нашем исследовании было выявлено снижение сократимости левого желудочка у пренатально стрессированных самцов [4], что указывает на преимущественное увеличение ОПСС как основного фактора в повышении АД у таких организмов, например, в результате возможного увеличения образования ангиотензина II или эндотелина-1

[25, 26], а также снижения образования NO эндотелиальной NO-синтазой.

В целом, увеличение АД у организмов, подвергавшихся пренатальному стрессу, можно объяснить не только дисфункцией эндотелия, но и стойкой активацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы; повышением активности симпатической нервной системы; «обеднением» органов и тканей сосудами микроциркуляторного русла [27]; структурно-функциональными изменениями почек в виде уменьшения в них количества нефронов [28], повышением активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника, эпителиальных натриевых каналов в почечных канальцах [29, 30].

## Заключение

Результаты исследования позволяют сформулировать следующие выводы:

1. Нарушения системы синтеза NO у пренатально стрессированных крыс имеют половые особенности, которые характеризуются снижением содержания eNOS и повышением содержания ингибитора NO-синтазной реакции – АДМА в сыворотке крови самцов, но не самок, при увеличении концентрации iNOS в сыворотке крови крыс обоих полов, перенесших пренатальный стресс.
2. У 3-месячного потомства, родившегося от крыс, которые подвергались действию стрессоров во время беременности, повышается интенсивность ПОЛ и увеличивается содержание  $\text{hsCRP}$  в сыворотке крови, что свидетельствует о наличии системного воспаления низкой интенсивности у пренатально стрессированных крыс.
3. У организмов, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности, обнаружено повышение АД в 3-месячном возрасте.

*Источники финансирования: средства, выделенные по ГПНИ Республики Беларусь «Оценить отдаленные последствия пренатального стресса на тонус коронарных сосудов и обоснование способов предупреждения выявленных нарушений».*

*The sources of financing: funds allocated within the frames of the theme task of State Research Programs (GPNI) of the Republic of Belarus «To evaluate the delayed sequel of the prenatal stress to the coronary vessels tension and to substantiate the methods for revealed disturbances prevention».*

## Литература

1. Furchgott, R. F. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide / R. F. Furchgott // *Biosci. Rep.* – 1999 Aug. – Vol. 19, N 4. – P. 235–251.
2. New therapeutic implications of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease / A. Daiber [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019 Jan. – Vol. 20, N 1. – pii: E187.
3. Barker, D. J. In utero programming of chronic disease / D. J. Barker // *Clin. Sci. (Lond.)* – 1998 Aug. – Vol. 95, N 2. – P. 115–128.
4. Особенности нарушений NO-зависимых механизмов регуляции тонуса сосудов сердца крыс, перенесших действие стрессоров в пренатальном периоде / Л. Е. Беляева [и др.] // *Вестн. ВГМУ.* – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 58–69.
5. Mir, S. A. An improved zinc reduction method for direct determination of nitrate in presence of nitrite / S. A. Mir // *As. J. Chem.* – 2007. – Vol. 19, N 7. – P. 5703–5710.
6. Гаврилов, В. Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара // *Лаб. дело.* – 1988. – № 2. – С. 60–64.
7. Андреева, Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // *Лаб. дело.* – 1988. – № 11. – С. 41–43.
8. Эндотелий. Физиология и патология : монография / А. С. Кузнецов [и др.]. – Одесса : Феникс, 2018. – 284 с.
9. Fulton, D. J. Transcriptional and posttranslational regulation of eNOS in the endothelium / D. J. Fulton // *Adv. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 77. – P. 29–64.
10. The cell-specific expression of endothelial nitric-oxide synthase: a role for DNA methylation / Y. Chan [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004 Aug. – Vol. 279, N 33. – P. 35087–35100.
11. The expression of endothelial nitric-oxide synthase is controlled by a cell-specific histone code / J. E. Fish [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005 Jul. – Vol. 280, N 26. – P. 24824–24838.
12. Lee, D. Y. Atherosclerosis and flow: roles of epigenetic modulation in vascular endothelium / D. Y. Lee, J. J. Chiu // *J. Biomed. Sci.* – 2019 Aug. – Vol. 26, N 1. – P. 56.
13. Anavi, S. iNOS as a metabolic enzyme under stress conditions / S. Anavi, O. Tirosh // *Free Radic. Biol. Med.* – 2020 Jan. – Vol. 146. – P. 16–35.
14. Epigenetic basis for the transcriptional hyporesponsiveness of the human inducible nitric oxide synthase gene in vascular endothelial cells / G. C. Chan [et al.] // *J. Immunol.* – 2005 Sep. – Vol. 175, N 6. – P. 3846–3861.
15. Fulton, M. D. The biological axis of protein arginine methylation and asymmetric dimethylarginine / M. D. Fulton, T. Brown, Y. G. Zheng // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019 Jul. – Vol. 20, N 13. – pii: E3322.
16. Chen, K. Nitric oxide in the vasculature: where does it come from and where does it go? A quantitative perspective / K. Chen, R. N. Pittman, A. S. Popel // *Antioxid. Redox Signal.* – 2008 Jul. – Vol. 10, N 7. – P. 1185–1198.
17. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as an important risk factor for the increased cardiovascular diseases and heart failure in chronic kidney disease / X. Liu [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2018 Aug. – Vol. 78. – P. 113–120.
18. Tain, Y. L. Toxic dimethylarginines: asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA) / Y. L. Tain, C. N. Hsu // *Toxins (Basel).* – 2017 Mar. – Vol. 9, N 3. – pii: E92.
19. Association of circulating levels of ADMA with carotid intima-media thickness in patients with CKD: a systematic review and meta-analysis / F. Wang [et al.] // *Kidney Blood Press. Res.* – 2018. – Vol. 43, N 1. – P. 25–33.
20. Eklund, C. M. Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation / C. M. Eklund // *Adv. Clin. Chem.* – 2009. – Vol. 48. – P. 111–136.
21. Stress during pregnancy alters temporal and spatial dynamics of the maternal and offspring microbiome in a sex-specific manner / E. Jacarevic [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017 Mar. – Vol. 7. – P. 44182.
22. Proinflammatory effects of advanced lipoxidation end products in monocytes / N. Shanmugam [et al.] // *Diabetes.* – 2008 Apr. – Vol. 57, N 4. – P. 879–888.
23. Estrogen receptor subcellular localization and cardiometabolism / P. Gourdy [et al.] // *Mol. Metab.* – 2018 Sep. – Vol. 15. – P. 56–69.
24. Estradiol counteracts oxidized LDL-induced asymmetric dimethylarginine production by cultured human endothelial cells / E. Monsalve [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2007 Jan. – Vol. 73, N 1. – P. 66–72.
25. Prenatal hypoxia causes long-term alterations in vascular endothelin-1 function in aged male, but not female, offspring / S. L. Bourque [et al.] // *Hypertension.* – 2013 Oct. – Vol. 62, N 2. – P. 753–758.
26. Prenatal hypoxia enhanced angiotensin II-mediated vasoconstriction via increased oxidative signaling in fetal rats / X. Zhu [et al.] // *Reprod. Toxicol.* – 2016 Apr. – Vol. 60. – P. 21–28.
27. Implications of maternal nutrient restriction in transgenerational programming of hypertension and endothelial dysfunction across F1-F3 offspring / B. F. Ponzio [et al.] // *Life Sci.* – 2012 Apr. – Vol. 90, N 15/16. – P. 571–577.
28. Growth restriction before or after birth reduces nephron number and increases blood pressure in male rats / M. E. Wlodek [et al.] // *Kidney Int.* – 2008 Jul. – Vol. 74, N 2. – P. 187–195.
29. Wyrwoll, C. S. Developmental programming of renal glucocorticoid sensitivity and the renin-angiotensin system / C. S. Wyrwoll, P. J. Mark, B. J. Waddell // *Hypertension.* – 2007 Sep. – Vol. 50, N 3. – P. 579–584.
30. Prenatal programming of rat proximal tubule Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger by dexamethasone / A. Dagan [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007 Mar. – Vol. 292, N 3. – P. R1230–R1235.

Поступила 25.02.2020 г.

Принята в печать 25.03.2020 г.

## References

- Furchgott RF. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. *Biosci Rep.* 1999 Aug;19(4):235-51. doi: 10.1023/a:1020537506008
- Daiber A, Xia N, Steven S, Oelze M, Hanf A, Kröller-Schön S, et al. New therapeutic implications of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease. *Int J Mol Sci.* 2019 Jan;20(1). pii: E187. doi: 10.3390/ijms20010187.
- Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond).* 1998 Aug;95(2):115-28.
- Belyaeva LE, Fedchenko AN, Lazuko SS, Ligetskaya IV, Orekhova NI. Peculiarities of disorders of NO-dependent mechanisms of regulation of the vascular tone of the heart vessels of rats undergoing the action of stressors in the prenatal period. *Vestn VGMU.* 2017;16(2):58-69. (In Russ.)
- Mir SA. An improved zinc reduction method for direct determination of nitrate in presence of nitrite. *As J Chem.* 2007;19(7):5703-10.
- Gavrilov VB, Gavrilova AR, Khmara NF. Measurement of plasma diene conjugates by ultraviolet absorption of heptane and isopropyl extracts. *Lab Delo.* 1988;(2):60-4. (In Russ.)
- Andreeva LI, Kozhemyakin LA, Kishkun AA. Modification of the method for determining lipid peroxides in the test with thiobarbituric acid. *Lab Delo.* 1988;(11):41-3. (In Russ.)
- Kuznetsova AS, Gozhenko AI, Kuznetsova ES, Shukhtin VV, Kuznetsova EN, Kuznetsov SG. Endothelium. Physiology and Pathology: monografiia. Odessa, Ukraine: Feniks; 2018. 284 p. (In Russ.)
- Fulton DJ. Transcriptional and posttranslational regulation of eNOS in the endothelium. *Adv Pharmacol.* 2016;77:29-64. doi: 10.1016/bs.apha.2016.04.001
- Chan Y, Fish JE, D'Abreo C, Lin S, Robb GB, Teichert AM, et al. The cell-specific expression of endothelial nitric-oxide synthase: a role for DNA methylation. *J Biol Chem.* 2004 Aug;279(33):35087-100.
- Fish JE, Matouk CC, Rachlis A, Lin S, Tai SC, D'Abreo C, et al. The expression of endothelial nitric-oxide synthase is controlled by a cell-specific histone code. *J Biol Chem.* 2005 Jul;280(26):24824-38.
- Lee DY, Chiu JJ. Atherosclerosis and flow: roles of epigenetic modulation in vascular endothelium. *J Biomed Sci.* 2019 Aug;26(1):56. doi: 10.1186/s12929-019-0551-8
- Anavi S, Tirosh O. iNOS as a metabolic enzyme under stress conditions. *Free Radic Biol Med.* 2020 Jan;146:16-35. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.10.411
- Chan GC, Fish JE, Mawji IA, Leung DD, Rachlis AC, Marsden PA. Epigenetic basis for the transcriptional hyporesponsiveness of the human inducible nitric oxide synthase gene in vascular endothelial cells. *J Immunol.* 2005 Sep;175(6):3846-61. doi: 10.4049/jimmunol.175.6.3846
- Fulton MD, Brown T, Zheng YG. The biological axis of protein arginine methylation and asymmetric dimethylarginine. *Int J Mol Sci.* 2019 Jul;20(13). pii: E3322. doi: 10.3390/ijms20133322
- Chen K, Pittman RN, Popel AS. Nitric oxide in the vasculature: where does it come from and where does it go? A quantitative perspective. *Antioxid Redox Signal.* 2008 Jul;10(7):1185-98. doi: 10.1089/ars.2007.1959
- Liu X, Xu X, Shang R, Chen Y. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as an important risk factor for the increased cardiovascular diseases and heart failure in chronic kidney disease. *Nitric Oxide.* 2018 Aug;78:113-120. doi: 10.1016/j.niox.2018.06.004
- Tain YL, Hsu CN. Toxic dimethylarginines: asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA). *Toxins (Basel).* 2017 Mar;9(3). pii: E92. doi: 10.3390/toxins9030092
- Wang F, Xiong R, Feng S, Lu X, Li H, Wang S. Association of circulating levels of ADMA with carotid intima-media thickness in patients with CKD: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Blood Press Res.* 2018;43(1):25-33. doi: 10.1159/000486743
- Eklund CM. Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation. *Adv Clin Chem.* 2009;48:111-36. doi: 10.1016/s0065-2423(09)48005-3
- Jašarević E, Howard CD, Misic AM, Beiting DP, Bale TL. Stress during pregnancy alters temporal and spatial dynamics of the maternal and offspring microbiome in a sex-specific manner. *Sci Rep.* 2017 Mar;7:44182. doi: 10.1038/srep44182
- Shanmugam N, Figarola JL, Li Y, Swiderski PM, Rahbar S, Natarajan R. Proinflammatory effects of advanced lipoxidation end products in monocytes. *Diabetes.* 2008 Apr;57(4):879-88. doi: 10.2337/db07-1204
- Gourdy P, Guillaume M, Fontaine C, Adlanmerini M, Montagner A, Laurell H, et al. Estrogen receptor subcellular localization and cardiometabolism. *Mol Metab.* 2018 Sep;15:56-69. doi: 10.1016/j.molmet.2018.05.009
- Monsalve E, Oviedo PJ, García-Pérez MA, Tarín JJ, Cano A, Hermenegildo C. Estradiol counteracts oxidized LDL-induced asymmetric dimethylarginine production by cultured human endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2007 Jan;73(1):66-72. doi: 10.1016/j.cardiores.2006.09.020
- Bourque SL, Gragasin FS, Quon AL, Mansour Y, Morton JS, Davidge ST. Prenatal hypoxia causes long-term alterations in vascular endothelin-1 function in aged male, but not female, offspring. *Hypertension.* 2013 Oct;62(4):753-8. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01516
- Zhu X, Gao Q, Tu Q, Zhong Y, Zhu D, Mao C, et al. Prenatal hypoxia enhanced angiotensin II-mediated vasoconstriction via increased oxidative signaling in fetal rats. *Reprod Toxicol.* 2016 Apr;60:21-8. doi: 10.1016/j.reprotox.2016.01.001
- Ponzio BF, Carvalho MH, Fortes ZB, do Carmo Franco M. Implications of maternal nutrient restriction in transgenerational programming of hypertension and endothelial dysfunction across F1-F3 offspring. *Life Sci.* 2012 Apr;90(15-16):571-7. doi: 10.1016/j.lfs.2012.01.017
- Wlodek ME, Westcott K, Siebel AL, Owens JA, Moritz KM. Growth restriction before or after birth reduces nephron number and increases blood pressure in male rats. *Kidney Int.* 2008 Jul;74(2):187-95. doi: 10.1038/ki.2008.153
- Wyrwoll CS, Mark PJ, Waddell BJ. Developmental programming of renal glucocorticoid sensitivity and the renin-angiotensin system. *Hypertension.* 2007 Sep;50(3):579-84. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.091603
- Dagan A, Gattineni J, Cook V, Baum M. Prenatal programming of rat proximal tubule Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger by dexamethasone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007 Mar;292(3):R1230-5. doi: 10.1152/ajpregu.00669.2006

Submitted 25.02.2020

Accepted 25.03.2020



**Сведения об авторах:**

Павлюкевич А.Н. – м.м.н., старший преподаватель кафедры патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Беляева Л.Е. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

**Information about authors:**

*Pauliukevich A.N. – Master of Medical Sciences, senior lecturer of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Belyaeva L.E. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра патологической физиологии. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Беляева Людмила Евгеньевна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pathologic Physiology. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Lyudmila E. Belyaeva.